

**Aus der Ambulatorischen und geburtshilflichen Veterinärklinik
der Justus Liebig - Hochschule Gießen**

Direktor: Professor Dr. Diedrich Küst



Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit einiger Verdünnungs- und Konservierungsmittel für Rindersperma

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Veterinärmedizinischen Fakultät

der Justus Liebig - Hochschule Gießen

Vorgelegt von

Fritz Ferdinand Schmidt

Tierarzt aus Hanau

GIESSEN 1955

Meinen Eltern zum Dank

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Schrifttum	2
III. Eigene Untersuchungen	6
IV. Schlussbetrachtungen	25
V. Literaturverzeichnis	27
VI. Lebenslauf	31

Mit Genehmigung des Dekans der Fakultät für Geisteswissenschaften

Dekan: Prof. Dr. Keller

Berichterstatter: Prof. Dr. Küst

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Februar 1952

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Veterinärmedizinischen Fakultät

der Justus Liebig - Hochschule Gießen

Vorgelegt von

Fritz Ferdinand Schmidt

Tierarzt aus Hanau

GIESSEN 1955

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät Gießen

Dekan: Prof. Dr. Keller

Berichterstatter: Prof. Dr. Küst

Tag der mündlichen Prüfung: 25. Februar 1955

I. Einleitung.

Anfang des Jahres 1953 wurde mir von Herrn Professor Dr. K ü s t die Aufgabe zugeteilt, die gebräuchlichsten auf dem Markt erschienenen Verdünnungsmittel für Bullensperma auf ihre konservierenden Eigenschaften hin zu untersuchen. Weiterhin sollten einige verbesserte, neuerschienene Verdünner mit den schon in Bezug auf ihre Brauchbarkeit erprobten verglichen werden.

Die Anforderungen, die an einen brauchbaren Spermaverdünner gestellt werden müssen, teilen sich im wesentlichen in 2 Gruppen:

1. Konservierende Eigenschaften und Spermafreundlichkeit,
2. Einfache Anwendung in der Praxis.

Diese beiden Faktoren dienen als Grundlage für die folgenden Untersuchungen.

II. S c h r i f t t u m .

Die Wichtigkeit des behandelten Problems zeigt sich darin, dass über die Verdünnung und Konservierung von Bullensperma von mehreren in- und ausländischen Autoren zahlreiche Untersuchungen durchgeführt sind. Zu den grundlegenden Veröffentlichungen muss nach G ö t z e (4) die Arbeit von M i l o w a n o w (15) gerechnet werden, der mehrjährige umfangreiche Erfahrungen mit verschiedenen Verdünnern veröffentlichte. In der Erkenntnis, dass durch Kühlung allgemein die Lebensvorgänge abgebremst werden, wird von K ü s t (11) für Sperma eine Aufbewahrungstemperatur zwischen 4 und 8° C. angegeben. Die Höhe der Verdünnung wird in der Praxis meist mit 1 : 4 bis 1 : 10 gehandhabt. Bei einer erhöhten Samennachfrage können auch höhere Verdünnungen verwendet werden und man erhält trotzdem befriedigende Besamungsergebnisse. G ö t z e (4) gibt für Spermaverdünner verschiedener Zusammensetzungen Verdünnungsgrade bis 1 : 16 an. Als schädigende Einflüsse, die bei der Herstellung einer Samenverdünnung unbedingt auszuschliessen sind, sind nach K ü s t (11) anzusehen: anorganische und organische Säuren, Basen und Salze, Desinfektionsmittel, Glycerin, Leitungswasser und destilliertes Wasser. Weiterhin können Spermaschädigungen eintreten durch Bakterien, Eiter-, Blut- oder Harnbeimengungen. A e h n e l t (1) und H o e l z e r (7) weisen darauf hin, daß plötzliche Temperaturschwankungen, sogenannte Temperaturschocks, schädlich auf das Sperma einwirken können.

A e h n e l t (1) und J ü r g e n s (9) haben Versuche mit verschiedenen Verdünnern angestellt und aufgezeigt, dass sich Eidotterspermasol zur Verdünnung und Konservierung von Bullensperma besonders gut bewährt hat. Hiermit konnten sie wiederum die guten Ergebnisse bestätigen, die in England schon vor dem Kriege mit Eidotter bei der Spermakonservierung gemacht wurden.

A e h n e l t (1) gibt als Optimum für Spermasol einen Eidotterzusatz von 20% bei einem Verdünnungsgrad von 1 : 5 an. H o e l z e r (7) stellte ebenfalls bei seinen Versuchen mit Eidotterverdünnern Eidotter selbst als bestes Zusatz- und Schutzkolloid für Sperma fest, konnte aber keine konstante Wirkung des Eidotters auf die Spermien nachweisen, da die Eigenschaften sowohl des einen wie auch des anderen zu variierend sind. R o m i j n (16) untersuchte den Einfluss von Eidotter auf Spermien, wobei Eidotter eine wesentliche Verbesserung der Spermaqualität ergab. W e i s s (20) teilt seine günstigen Erfahrungen bei Prüfungen von entrahmter Frischmilch mit Eidotterzusatz mit, die jedem anderen Verdünner mindestens gleichwertig sei. Die Milch kann aber auch ohne jeden Zusatz mit zufriedenstellenden Ergebnissen angewendet werden. Zu den Versuchen wurde erhitzte Molkereimilch benutzt. Von M a l a p e r t (14) hat durch Versuche gezeigt, dass einige Trockenverdünner von Merck, die in sterilen Gläschen geliefert und ohne Zusatz verwendet werden können, den Anforderungen nicht voll gerecht werden. Mit Eidotterzusatz waren sie teils über -, teils unterlegen im Vergleich zu Eidotter-

spermasol. Dagegen hat R ü h l e (17) in Vergleichsversuchen gefunden, dass Diloften, ein Trockenpräparat von Merck, ohne Zusatz bis zum fünften Tag die gleichen Ergebnisse wie Eidotterspermasol zeitigte. S p i e s (18) schreibt, dass die geringe Viskosität des Trockenverdünners Diloften und eine damit verbundene Sedimentierung, die von anderen Autoren bemängelt wurde, ungefährlich und ohne Einfluss sei. Eine höhere Viskosität, wie sie bei anderen Verdünnern vorhanden ist, hat sich in seinen Versuchen ebenfalls als unwesentlich dargestellt. Seine Besamungsergebnisse bei 500 Kühen sind die gleichen, wie bei Verwendung von Eidottersitratverdünner. Gleichzeitig weist er auf die nicht zu unterschätzende einfache Handhabung des Trockenverdünners hin. H a e g e r , H e i d e n - r e i c h und L e i d l (5) fassten ihre Untersuchung dahingehend zusammen, dass bei wöchentlich zweimaliger Samenentnahme und Verwendung des Trockenverdünners "Diloften" gleiche Ergebnisse erhalten werden wie bei einer dreimaligen Samenentnahme je Woche und Verwendung von Eidottersitratverdünner. Zu ähnlichen Feststellungen kommt U l l n e r (19) mit Diloften in seinen Versuchsreihen in vitro.

Über den Zusatz von keimhemmenden Mitteln zum Sperma und seinen Verdünnungen berichten F o o t e (3) und S a l i s b u r y (3) von günstigen Einfluss einiger Sulfonamide, L a n g h o f f (13) führt Streptomycin als überlegen an. Als bestes Verhältnis der Spermaverdünnung zu Streptomycin wird die von 1 : 10 000 angegeben.

Für die zweckmässige Gewinnung, Aufbewahrung und Verdünnung von Bullensperma geben G ö t s e (4) und K ü s t und S c h a e t z (11) weitere Anleitungen. Alle Haustiere betreffend, hat darüber H l a d y s z e w s k y (6) berichtet. Eine gute Anleitung für die Spermaaburteilung geben K ü s t und S c h a e t z (11). Für die Bestimmung der Spermadichte wird das Zählkammerverfahren für zuverlässig erachtet. Der Gehalt an toten Spermien kann nach B o g u t h (2) mit einer 2%igen Eosinlösung und Vorschaltung eines Blaufilters bei der mikroskopischen Untersuchung, mit einer Fehlerquote von 2,5 % festgestellt werden. Zu der weiteren Spermaqualitätsbestimmung empfiehlt K a r r a z (10) im Hinblick auf die Resistenz gegenüber gleichbleibenden, ungünstigen Einflüssen das Warmwasserbad von konstant 40° C., in welches das mit 1 % ger Kochsalzlösung verdünnte Sperma oder seine Verdünnung eingebracht werden.

III. Eigene Versuche.

In den folgenden Versuchen wurde Sperma von Bullen untersucht, die als Patienten oder Versuchstiere in der Klinik standen. Das Sperma zeigte allgemein von einen zum anderen Versuch gewisse Unterschiede in der Qualität, welche jedoch im Durchschnitt ohne besondere Bedeutung sind. In den einzelnen Versuchen wurden, um gleiche Spermaqualität zu gewährleisten, ein Ejakulat für die ganze Reihe der Versuche verwandt; hierdurch waren gleiche Vorbedingungen für die Beurteilung der Verdünner untereinander vorhanden. Der Samen wurde wie üblich mittels künstlicher Gummivagina entnommen. Das Samenauffangglas wurde in ein Wasserbad von etwa 30° C. eingebracht, um im Laboratorium dann langsam auf Zimmertemperatur abzukühlen.

Die Untersuchungen der einzelnen Ejakulate erstreckten sich auf:

Menge in ccm.

Farbe.

Konsistenz.

Massenbewegung: sehr gut - sg, gut - g,
genügend - ggd. gering - gg.

Vorwärtsbewegung in Prozenten.

Dichte des Spermas in Mill./ccm, mit Bürkerscher
Kammer gezählt.

Prozentzahl der toten Spermien (mit Hilfe der
Eosinlösung).

Prozentzahl der pathologischen Spermien.

pH-Wert mittels Indikatorpapier (Merck).

Die Verdünnungs- und Konservierungsmittel wurden vor der Samenentnahme bereitgestellt und ebenfalls auf Zimmertemperatur gebracht, um das Sperma bei Zusatz vor ungewünschten Belastungen zu schützen. Die Menge der herzustellenden Samenverdünnungen richteten sich jeweils nach der anfallenden Spermamenge und der Anzahl der zu vergleichenden Verdünnungen. Nach der Verdünnung, die durch vorsichtige Mischung von Sperma und Verdünnung vorgenommen wurde, wurden die Röhrchen mit paraffinierten Korkstopfen verschlossen, in ein Wasserbad von Zimmertemperatur gestellt und dann in den Kühlschrank verbracht. Die Aufbewahrung geschah dort bei Temperaturen zwischen 4° - 6° C. Für die täglichen Untersuchungen wurden die Proben nur für kurze Zeit aus dem Kühlschrank entnommen, um sie vor unnötiger Erwärmung zu schützen. Die zur Entnahme benutzten Geräte wurden ebenfalls vorgekühlt, um einen Temperaturschock zu vermeiden.

Die täglichen Untersuchungen der Verdünnungen erstreckten sich auf :

Massenbewegung.

Anzahl der toten Spermien.

Resistenz gegenüber Kochsalz im Warmwasserbad.

Die Massenbewegung wurde im Mikroskop auf dem Heiztisch beurteilt.

Die Anzahl der toten Spermien wurde durch die Eosinfärbung unter Verwendung eines Blaufilters ermittelt. Hierzu wurde ein Tropfen des verdün-

ten Spermas mit einem Tropfen der Farblösung vermischt, ausgestrichen und durch leichte Erwärmung fixiert. Mittels eines Gitters wurden dann die toten Spermien durch Auszählen im Mikroskop festgestellt. Die Resistenzprobe wurde mit 0,02 ccm des unverdünnten, bzw. 0,1 ccm des verdünnten Spermas (1 : 4) und 10,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung von genau 40° C. angesetzt. Diese Methode weist gegenüber den ursprünglichen Angaben gewisse Unterschiede auf. Das benutzte Wasserbad bedurfte einer dauernden Kontrolle, da jeder äussere Einfluss, wie Luftzug oder Sonnenstrahlung die Temperatur ein wenig verschob und somit die Endresultate geringe Schwankungen zeigten. Die Kontrollen wurden nach Bedarf entnommen und auf dem Heiztisch beurteilt. Die Resistenzzeit galt als ermittelt, wenn noch ein Spermium Vorwärtsbewegung zeigte. Vorgenannte Anordnung wurde bei allen Versuchsreihen innegehalten. Bei Eidottersatz wurde stets Dotter von frisch gelegten Eiern verwendet. Hierzu wurde die Dotterhaut aufgeschnitten, und der Inhalt mit einer weithlumigen Pipette entnommen.

Zu der ersten Versuchsreihe wurden in den Versuchen Nummer 1, 2, 3 und 4 folgende Verdünnungs- und Konservierungsmittel gewählt:

a) Natriumzitrat (Z) 2,8 g Natrium citricum

0,5 g Glukose

ad 100,0 Aqua dest.

b) Auf 80° C. erhitzte, entrahmte Frischmilch (M).

c) Dilopten (D); der Inhalt eines Röhrchens auf 20 ccm
destilliertes Wasser mit 20% Eidotter.

d) Spermasol (S); 10 ccm mit 4000 Streptomycin und
20% Eidotter.

Die eingeklammerten Buchstaben sind die Abkürzungen, die in den Tabellen erscheinen.

Das Sperma zu Versuch 1 lieferte der Fleckviehbulle der Gemeinde Maulbach (Patienten-Nummer 105/139).

Menge: 6,1 ccm. Tote Spermien (T) : 20 %.

Farbe: grauweiss. Pathologische Spermien: 2 %.

Konsistenz: rahmig. pH - Wert (pH): 6,7.

Massenbewegung(M): Dichte (Dt.): 1,486 Mill./cm
gut.

Vorwärtsbewegung (V): 75 %.

Zu dem II. Versuch lieferte der gleiche Bulle das Sperma.

Menge: 5,5 ccm Dt.: 1,625 Mill./cm.

Farbe: grauweiss. T.: 20 %.

Konsistenz: rahmig. P.: 2 %.

M.: gut pH: 6,7

V.: 80 %

Der Versuch Nr. III ist mit dem Sperma des Bullen mit der Patienten-Nummer 105/140 angesetzt worden.

Menge : 6 ccm Dt.: 1,553 Mill./cm.

Farbe: grauweiss. T. : 26 %.

Konsistenz: rahmig. P.: 4 %.

M.: gut pH: 6,6

V.: 70%

Zu dem Versuch IV wurde ebenfalls Sperma des Bullen 105/139 verwandt.

Menge: 7,25 ccm. Dt.: 1,193 Mill./ccm.

Farbe: gelblichweiss. T. : 30 %.

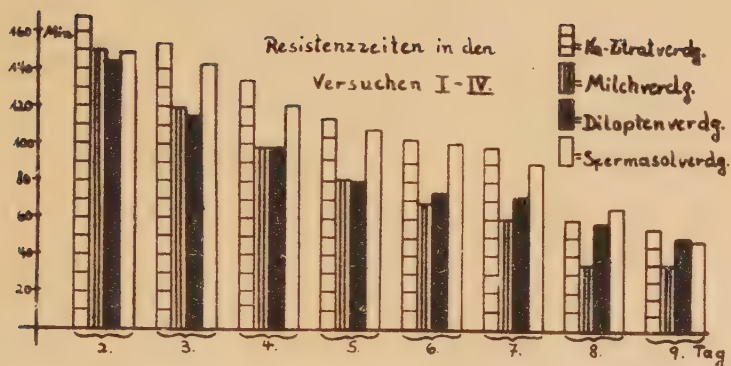
Konsistenz: milchig. P. : 3 %.

M.: sehr gut - gut. pH : 6,5.

V.: 70%.

Um die Übersicht der Ergebnisse deutlich zu gestalten, soll von jeder geschlossenen Versuchsreihe eine Tabelle mit den errechneten Durchschnittswerten der Resistenzzeit und der Anzahl der toten Spermien folgen. Die schwankenden Ergebnisse der Untersuchung der Ejakulate eines Bullen lassen sich zum Teil dadurch erklären, dass die Bullen bisher in den Gemeinden täglich decken mußten, jetzt aber meist 10 Tage zwischen den jeweiligen Samenentnahmen verstrichen.

In der nachstehenden Tabelle ist die durchschnittliche Resistenzzeit in Minuten angegeben.



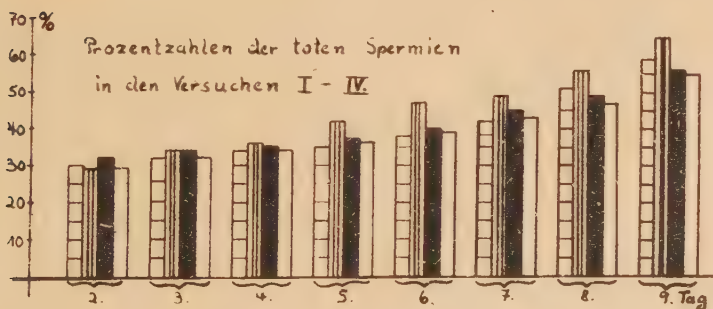
1:10

4:5

Z.	M.	D.	S.		Z.	M.	D.	S.		Z.	M.	D.	S.		Z.	M.	D.	S.	
168	150	144	149	2.	161	146	166	139	30	29	32	29	2.	29	29	31	28		
154	149	145	143	3.	149	109	149	116	32	34	34	32	3.	32	33	34	31		
134	98	98	121	4.	130	98	130	96	34	36	35	34	4.	33	38	36	34		
114	81	80	108	5.	114	81	114	81	35	42	37	36	5.	34	44	35	36		
103	68	74	101	6.	110	71	101	71	38	47	40	39	6.	38	51	39	40		
99	60	72	90	7.	91	56	95	56	42	49	45	43	7.	42	56	43	44		
60	35	58	66	8.	68	40	66	45	51	56	49	47	8.	48	66	50	47		
55	35	50	48	9. Tag	52	34	51	42	59	65	56	55	9. Tag	55	74	59	57		

1:5

1:10



In den Versuchen mit einer Verdünnung von 1 : 5 zeigte sich, dass der Eidotterzitraterdünner den anderen geringgradig überlegen ist, wenn man die Kochsalzresistenzprobe als Maßstab anlegt. Spermasol mit Eidotterzusatz zeigt das nächstgünstigere Ergebnis auf, da es noch gute Werte am 6. Tage zeitigt. Das Dilothen mit Eidotter zeigt einen grösseren Abfall am 4. Tage, nähert sich jedoch am 8. und 9. Tage wieder den Werten von Spermasol - und Zitraterdünnungen. Die Milch zeigt ähnliche Werte wie das Dilothen, fällt aber vom 7. Tage an stark ab, um am 9. bis zu 20 Minuten darunter zu liegen. Bei einem Vergleich der Verdünnungen 1 : 5 und 1 : 10 ist ein Unterschied der Werte zugunsten der Verdünnung 1 : 5 zu erkennen. Dilothen macht hiervon eine Ausnahme, indem es bis zum 8. Tage in der Verdünnung 1 : 10 günstigere Werte aufweist.

Die Anzahl der toten Spermien ist im Durchschnitt bei Zitrater-, Dilothen- und Spermasolverdünner bis auf 5 % Unterschiede gleich. Wie in der Resistenzprobe, zeigte die Milch in der Anzahl der toten Spermien weniger günstige Werte. Schon vom 4. Tage ab lagen die Prozentzahlen über denen der anderen Verdünner und schliesslich am 9. Tage um 10 % schlechter als beim Spermasolverdünner. Hierbei ist zu beachten, dass die Milch ohne jeden Zusatz mit den drei eidotterhaltigen Verdünnern verglichen wurde. Ein auffallender Unterschied zwischen den Verdünnungen 1 : 5 und 1 : 10 war nur bei der Milch vorhanden, bei der die Endwerte um 10 % differierten.

In den folgenden zwei Versuchen Nr. V und VI wurden die nachstehenden Verdünnner mit unverdünntem Sperma verglichen:

- a) Dilopton - Neu (DN), eine Verbesserung von Dilopton (Merck).
- b) Natriumsitratverdünner (NZ), in der oben angegebenen Zubereitung.
- c) Spermasol (Spl).
- d) Unverdünntes Sperma (Sa).

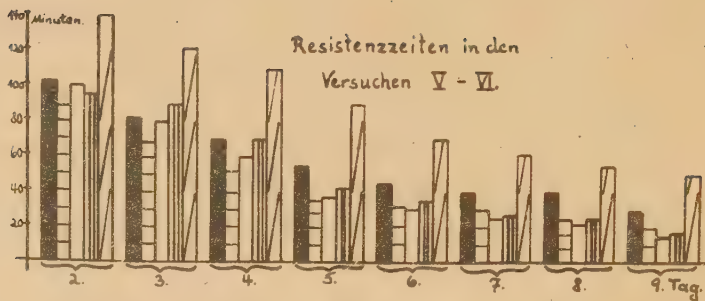
In beiden Reihen wurde ohne jeglichen Zusatz, also ohne Eidotter gearbeitet.

Das Sperma des Versuches Nr. V stammt von dem Bullen 105/144.

Menge: 7,5 ccm.	Dt.: 1,134 Mill./ccm.
Farbe: grauweiss.	T. : 34 %.
Konsistenz: milchig-rauhig.	P. : 3 %.
M.: sehr gut.	pH.: 6,5.
V.: 65 %.	

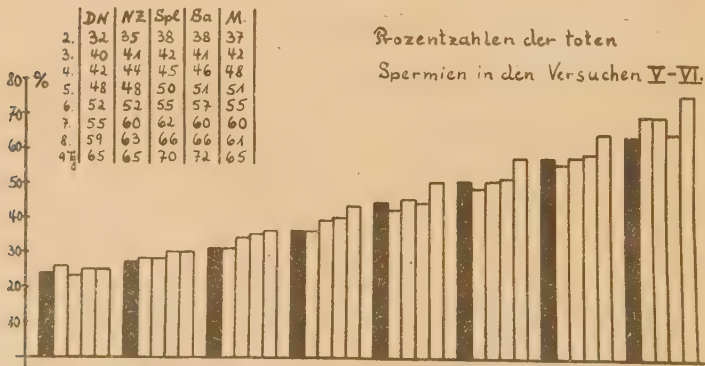
Für den Versuch Nr. VI wurde Sperma von dem Bullen 105/145 genommen.

Menge: 5,0 ccm	Dt.: 1,324 Mill./ccm.
Farbe: weiss.	T. : 27 %.
Konsistenz: rauhig.	P. : 4 %.
M.: sehr gut - gut.	pH : 6,6.
V.: 70 %.	



	DN	NZ	Spl	Ba	M.
2.	102	88	100	95	140
3.	82	68	80	90	122
4.	70	52	60	70	110
5.	55	35	37	42	90
6.	45	32	30	35	70
7.	40	30	25	27	62
8.	40	25	22	25	55
9. Tag	30	20	15	17	50

- = Diolphen-Neu-Verdg.
- = Na-Zitratverdg.
- ▨ = Spermasolverdg.
- ▤ = Unverd. Sperma
- ▧ = Milchverdg.



	DN	NZ	Spl	Ba	M.
2.	32	35	38	38	37
3.	40	41	42	41	42
4.	42	44	45	46	48
5.	48	48	50	51	51
6.	52	52	55	57	55
7.	55	60	62	60	60
8.	59	63	66	66	61
9. Tag	65	65	70	72	65

In diesen beiden Versuchen zeigt sich die Überlegenheit von Milch gegenüber den eidotterfreien Verdünnern. Der Resistenzwert der Sperma-Milchverdünnung ist am 2. Tage um ca. 40 Minuten und am 9. Tage um ca. 20 Minuten grösser als der des nächstgünstigeren Verdünners Dilothen. Die Milch zeigt also, wie auch das Dilothen, deutlich konservierende Eigenschaften gegenüber dem Sperma. Die Dilothenverdünnung hat zwar am 2. Tage den gleichen Wert wie von Spermasol, zeigt aber ihr gegenüber ab dem 4. Tage günstigere Werte, um am 9. ca. 15 Minuten über der Resistenzdauer von unverdünntem Sperma zu stehen, während Spermasol schon vom 3. Tage ab geringere Werte zeigt. Die Natriumzitratverdünnung hat am 2. Tage im Vergleich zu den anderen den geringsten Resistenzwert und zwar 50 Minuten unter dem Wert für Milch, fällt aber bis zum 9. Tag langsamer ab.

Die Prozentzahlen der toten Spermien sind im unverdünnten Sperma am höchsten. Nur um wenige Prozent tiefer liegen die Werte des Spermasolverdünners. Mit nur 5 % Unterschied folgen Dilothen - Neu, Natriumzitrat und Milch. Aus der Anzahl der toten Spermien in den verschiedenen Verdünnungsmitteln kann man nach diesen Werten nicht ohne weiteres auf eine deutlich konservierende Eigenschaft dieser schließen. Mit den Milchverdünnungen zeigte es sich, dass es trotz aller Vorsicht bei der Vermeidung zu Ausfällung durch Säuerung kommen kann, indem eine Probe sauer wurde, die Milch eingetrennt. Damit war durch die starke Abnahme des pH - Wertes ein schnelles Absterben der Spermien bedingt.

In den folgenden 6 Versuchen wurden nachstehende 8 Verdünnungen miteinander verglichen:

- a) Diloften "283" (D283), ein weiteres Versuchspräparat von Merck.
- b) Diloften-Neu mit Zusatz von Brenstraubensäurelösung und Aminovit (DN).
- c) Diloften-Neu mit 20 % Eidotter (DNE).
- d) Milch mit Zusatz von 0,5 % Sulfapyridin (M).
- e) Milch mit 0,5 % Sulfapyridin und 20% Eidotter. (ME).
- f) Spermasol mit 20 % Eidotterzusatz (SpE).
- g) Spermaverdünner - Behring (SpVB).
- h) Natriumzitratlösung in der angegebenen Zubereitung mit 20 % Eidotter (NZE).

Die hierzu verwandten Ejakulate hatten folgende Daten:

Versuch Nr. VII: Bulle 105/6.

Menge 7 ccm	Dt.: 1,315 Mill./ccm.
Farbe: gelblichweiss.	T. : 29 %.
Konsistenz: rahmig.	P. : 2 %.
M.: sehr gut.	pH : 6,5.
V.: 70 %.	

Im Ejakulat und in allen Verdünnungen ist häufiges Auftreten von Spermienzusammenklumpungen an den Köpfen festzustellen.

Versuch Nr. VIII: Bulle 105/5.

Menge: 4 ccm.	Dt.: 1,676 Mill./cm.
Farbe: grauweiss.	T. : 15 %.
Konsistenz: rahmig.	P. : 2 %.
M.: sehr gut.	pH : 6,7.
V.: 80 %.	

Versuch IX: Bulle 105/xy.

Menge: 2,5 ccm.	Dt.: 1,523 Mill./cm.
Farbe: gelblichweiss.	T. : 25 %.
Konsistenz: rahmig.	P. : 3 %.
M.: gut.	pH : 6,8.
V.: 70 %.	

Versuch Nr. X : Bulle 105/xy.

Menge: 5 ccm	Dt.: 1,325 Mill./cm.
Farbe: grauweisslich.	T. : 19 %.
Konsistenz: rahmig.	P. : 4 %.
M.: sehr gut.	pH.: 6,6.
V.: 80 %.	

Versuch Nr. XI: Bulle 105/60.

Menge: 6 ccm.	Dt.: 1,344 Mill./cm.
Farbe: grauweißlich.	T. : 23 %.
Konsistenz: milchig-rahmig.	P.: 3 %.
M.: sehr gut-gut	pH.: 6,7.
V.: 85 %.	

Versuch Nr. XII: Bulle 105/60.

Menge: 4 ccm.

Dt.: 1,152 Mill./cm.

Farbe: grauweisslich.

T. : 22 %.

Konsistenz: milchig.

P. : 4 %.

M.: gut.

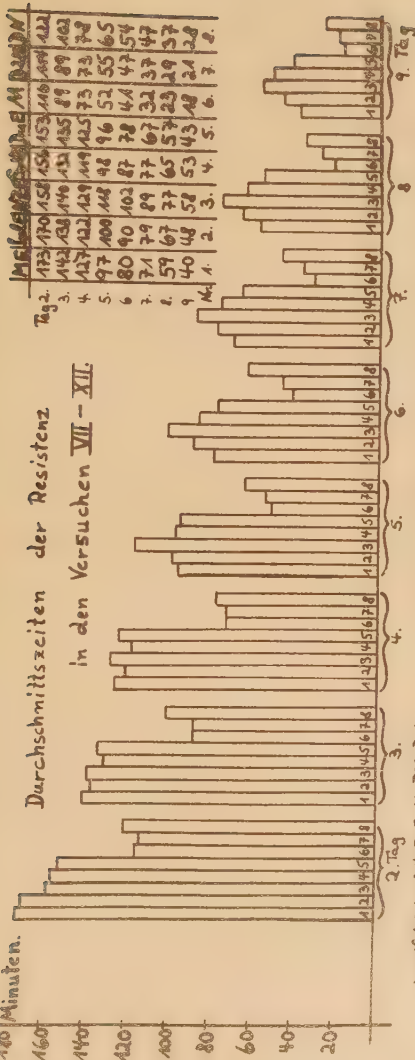
pH: 6,8

V.: 75 %.

180 Minuten.

Durchschnittszeiten der Resistenz

in den Versuchen VII - XII.



MEIßENZESBUNDE M. DUBON									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
22	21	22	23	22	21	22	23	22	21
25	24	26	25	26	30	27	26	30	27
29	28	30	31	29	35	31	29	35	31
34	33	33	33	33	41	35	35	41	35
39	37	38	44	39	45	40	40	45	40
44	44	43	46	45	48	44	45	48	44
48	45	48	51	49	55	49	50	55	49
53	51	56	56	59	63	58	56	63	58
58	54	56	56	59	63	58	56	63	58
63	54	56	56	59	63	58	56	63	58
68	54	56	56	59	63	58	56	63	58
73	54	56	56	59	63	58	56	63	58
78	54	56	56	59	63	58	56	63	58
83	54	56	56	59	63	58	56	63	58
88	54	56	56	59	63	58	56	63	58
93	54	56	56	59	63	58	56	63	58
98	54	56	56	59	63	58	56	63	58
103	54	56	56	59	63	58	56	63	58
108	54	56	56	59	63	58	56	63	58
113	54	56	56	59	63	58	56	63	58
118	54	56	56	59	63	58	56	63	58
123	54	56	56	59	63	58	56	63	58
128	54	56	56	59	63	58	56	63	58
133	54	56	56	59	63	58	56	63	58
138	54	56	56	59	63	58	56	63	58
143	54	56	56	59	63	58	56	63	58
148	54	56	56	59	63	58	56	63	58
153	54	56	56	59	63	58	56	63	58
158	54	56	56	59	63	58	56	63	58
163	54	56	56	59	63	58	56	63	58
168	54	56	56	59	63	58	56	63	58
173	54	56	56	59	63	58	56	63	58
178	54	56	56	59	63	58	56	63	58
183	54	56	56	59	63	58	56	63	58
188	54	56	56	59	63	58	56	63	58
193	54	56	56	59	63	58	56	63	58
198	54	56	56	59	63	58	56	63	58
203	54	56	56	59	63	58	56	63	58
208	54	56	56	59	63	58	56	63	58
213	54	56	56	59	63	58	56	63	58
218	54	56	56	59	63	58	56	63	58
223	54	56	56	59	63	58	56	63	58
228	54	56	56	59	63	58	56	63	58
233	54	56	56	59	63	58	56	63	58
238	54	56	56	59	63	58	56	63	58
243	54	56	56	59	63	58	56	63	58
248	54	56	56	59	63	58	56	63	58
253	54	56	56	59	63	58	56	63	58
258	54	56	56	59	63	58	56	63	58
263	54	56	56	59	63	58	56	63	58
268	54	56	56	59	63	58	56	63	58
273	54	56	56	59	63	58	56	63	58
278	54	56	56	59	63	58	56	63	58
283	54	56	56	59	63	58	56	63	58
288	54	56	56	59	63	58	56	63	58
293	54	56	56	59	63	58	56	63	58
298	54	56	56	59	63	58	56	63	58
303	54	56	56	59	63	58	56	63	58
308	54	56	56	59	63	58	56	63	58
313	54	56	56	59	63	58	56	63	58
318	54	56	56	59	63	58	56	63	58
323	54	56	56	59	63	58	56	63	58
328	54	56	56	59	63	58	56	63	58
333	54	56	56	59	63	58	56	63	58
338	54	56	56	59	63	58	56	63	58
343	54	56	56	59	63	58	56	63	58
348	54	56	56	59	63	58	56	63	58
353	54	56	56	59	63	58	56	63	58
358	54	56	56	59	63	58	56	63	58
363	54	56	56	59	63	58	56	63	58
368	54	56	56	59	63	58	56	63	58
373	54	56	56	59	63	58	56	63	58
378	54	56	56	59	63	58	56	63	58
383	54	56	56	59	63	58	56	63	58
388	54	56	56	59	63	58	56	63	58
393	54	56	56	59	63	58	56	63	58
398	54	56	56	59	63	58	56	63	58
403	54	56	56	59	63	58	56	63	58
408	54	56	56	59	63	58	56	63	58
413	54	56	56	59	63	58	56	63	58
418	54	56	56	59	63	58	56	63	58
423	54	56	56	59	63	58	56	63	58
428	54	56	56	59	63	58	56	63	58
433	54	56	56	59	63	58	56	63	58
438	54	56	56	59	63	58	56	63	58
443	54	56	56	59	63	58	56	63	58
448	54	56	56	59	63	58	56	63	58
453	54	56	56	59	63	58	56	63	58
458	54	56	56	59	63	58	56	63	58
463	54	56	56	59	63	58	56	63	58
468	54	56	56	59	63	58	56	63	58
473	54	56	56	59	63	58	56	63	58
478	54	56	56	59	63	58	56	63	58
483	54	56	56	59	63	58	56	63	58
488	54	56	56	59	63	58	56	63	58
493	54	56	56	59	63	58	56	63	58
498	54	56	56	59	63	58	56	63	58
503	54	56	56	59	63	58	56	63	58
508	54	56	56	59	63	58	56	63	58
513	54	56	56	59	63	58	56	63	58
518	54	56	56	59	63	58	56	63	58
523	54	56	56	59	63	58	56	63	58
528	54	56	56	59	63	58	56	63	58
533	54	56	56	59	63	58	56	63	58
538	54	56	56	59	63	58	56	63	58
543	54	56	56	59	63	58	56	63	58
548	54	56	56	59	63	58	56	63	58
553	54	56	56	59	63	58	56	63	58
558	54	56	56	59	63	58	56	63	58
563	54	56	56	59	63	58	56	63	58
568	54	56	56	59	63	58	56	63	58
573	54	56	56	59	63	58	56	63	58
578	54	56	56	59	63	58	56	63	58
583	54	56	56	59	63	58	56	63	58
588	54	56	56	59	63	58	56	63	58
593	54	56	56	59	63	58	56	63	58
598	54	56	56	59	63	58	56	63	58
603	54	56	56	59	63	58	56	63	58
608	54	56	56	59	63	58	56	63	58
613	54	56	56	59	63	58	56	63	58
618	54	56	56	59	63	58	56	63	58
623	54	56	56	59	63	58	56	63	58
628	54	56	56	59	63	58	56	63	58
633	54	56	56	59	63	58	56	63	58
638	54	56	56	59	63	58	56	63	58
643	54	56	56	59	63	58	56	63	58
648	54	56	56	59	63	58	56	63	58
653	54	56	56	59	63	58	56	63	58
658	54	56	56	59	63	58	56	63	58
663	54	56	56	59	63	58	56	63	58
668	54	56	56	59	63	58	56	63	58
673	54	56	56	59	63	58	56	63	58
678	54	56	56	59	63	58	56	63	58
683	54	56	56	59	63	58	56	63	58
688	54	56	56	59	63	58	56	63	58
693	54	56	56	59	63	58	56	63	58
698	54	56	56	59	63	58	56	63	58
703	54	56	56	59	63	58	56	63	58
708	54	56	56	59	63	58	56	63	58
713	54	56	56	59	63	58	56	63	58
718	54	56	56	59	63	58	56	63	58
723	54	56	56	59	63	58	56	63	58
728	54	56	56	59	63	58	56	63	58
7									

Der Vergleich der besten Anfangswerte in der Resistenzprobe spricht für Milch mit Eidotter und Eidotter-Spermasol als gute Verdünner. Wenn ersterer in den ersten vier Tagen etwas bessere Werte zeigt, so hat letzterer vom 7. bis 9. Tage die besseren. Die besten Endwerte wurden jedoch mit Natriumzitrateidotter und Sperma verdünner-Behring erzielt. Dilothen-Neu mit Eidotter zeitigte zu Beginn der Versuche um ca. 15 Minuten schlechtere Ergebnisse als der beste Verdünner, kommt jedoch zum 9. Tag hin auf die gleiche Stufe wie Eidotter-Spermasol und Milch mit Eidotter. Von den eidotterfreien Verdünnern weist Dilothen-Neu die günstigsten Werte auf. Der Abfall zu den Endwerten geht aber langsamer vor sich als bei den mit Eidotter versetzten Verdünnern. Am wenigsten günstig erscheint die Milch, da sie mit ihren Werten noch unter dem Dilothen "283" liegt.

Die Prozentsahlen der toten Spermien weisen ähnliche Ergebnisse auf, wie die Werte der durchschnittlichen Dauer der Resistenzzeiten. Wieder sind es Eidotter-Spermasol und Milch mit Eidotter, bei denen die günstigsten Werte festgestellt wurden. Weiterhin wurde beobachtet, dass am vierten Tag alle Verdüner ausser Milch, die schon 41 % tote Spermien aufwies, 35 % tote Spermien und darunter hatten.

Es hatten demnach Dilothen "283" und Dilothen-Neu die gleichen Werte, wie die eidotterhaltigen Verdüner, wenn sich auch die Ergebnisse gegen den 9. Tag hin zu ungunsten ersterer

zeigten. Grosse Unterschiede, die eine Untauglichkeit eines Verdünners zeigen würden, kamen nicht vor. Im Ganzen kann festgestellt werden, dass Eidotterzusatz die Werte im Durchschnitt günstiger gestaltet, dass jedoch die grösseren Unterschiede erst ab dem sechsten Tage eintreten.

Eine neue Reihe, die Versuche Nr. XIII - XIV galten dem Vergleich von eidotterfreien Verdünnungssubstanzen.

- a) Milch mit Zusatz von 0,5 % Supronallösung (M_{Sp}).
- b) Milch mit Zusatz von 0,5 % Sulfapyridinlösung (M_{Su}).
- c) Milch (M).
- d) Dilothen "283" (D283).
- e) Spermasol (Sp1).

Versuch Nr. XIII: Bulle 106/60.

Menge: 4,5 ccm	Dt.: 0,950/Mill./cm.
Farbe: grauweiss.	T. : 24 %.
Konsistenz: milthig.	P. : 3 %.
M.: sehr gut - gut	pH : 6,5.
V.: 75 %.	

Versuch Nr. XIV: Bulle 106/60.

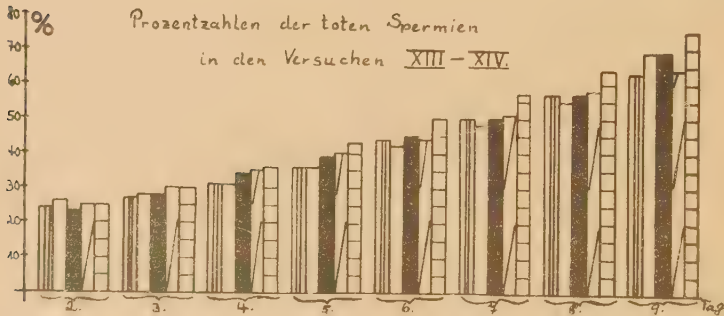
Menge: 3,2 ccm	Dt.: 1,134 Mill./cm.
Farbe: weiss.	T. : 20 %.
Konsistenz: milchig-rahmig.	P.: 3 %.
M.: gut	pH : 6,6.
V.: 75 %.	



MSp	MSu	M	D283	Spe	
147	140	132	95	93	2.
137	130	122	90	83	3.
128	117	112	83	70	4.
112	105	100	78	60	5.
98	90	87	62	45	6.
82	80	75	50	38	7.
67	65	62	35	28	8.
55	52	50	25	18	9.Tag

MSp	MSu	M	D283	Spe	
24	26	23	25	25	2.
27	28	28	30	30	3.
31	31	34	35	36	4.
36	36	39	40	43	5.
44	42	45	44	50	6.
50	48	50	51	57	7.
57	55	57	58	64	8.
63	69	69	66	75	9.Tag

■ = Milchsupronalvlg.
 □ = M-Sulfapyridinvlg.
 ■ = Milchwlg.
 ▨ = Diaptenvlg.
 ▩ = Spermasolvlg.



Hier zeigt es sich, dass die Milch ein ausgezeichnetes Medium für das Sperma darstellt. Dilothen und Spermasol zeitigen doch wesentlich schlechtere Ergebnisse. Dilothen jedoch ist dem Spermasol überlegen. Der Zusatz von Sulfonamiden lässt in den ersten Tagen geringe Zunahme der Resistenz erkennen. Die Endresultate nähern sich aber doch wieder denen der Milch ohne Zusatz, welche einen langsameren Abfall der Werte hat. Der Zusatz von keimhemmenden Mitteln erscheint als geeignet, eine Milchsäuerung weitgehend zu verhindern.

Die Anzahl der toten Spermien der beiden Versuche zeigt, dass der Sulfonamidzusatz zur Milch dieser keine höhere Konservierungsfähigkeit gibt. Das Spermasol ohne Zusatz weist die ungünstigsten Ergebnisse auf, sowohl in Dilothen "283" als auch in Milch konnten erst am 5. Tage 40 % tote Spermien festgestellt werden. Die Werte von Dilothen gleichen am 8. und 9. Tage denen der Milch.

Während der Arbeit mit den verschiedenen Verdünnern hat es sich gezeigt, dass Dilothen und der Spermaverdünner Behring, welcher inzwischen aus dem Verkehr gezogen wurde, bei der Herstellung am einfachsten zu handhaben sind. Es handelt sich hierbei um das Mischen und Auflösen eines sterilen Pulvers in destilliertem Wasser. Es empfiehlt sich, das Wasser zu diesem Zwecke auf etwa 60° C. anzuwärmen. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Dilothenverdünnern störten gewisse, in dem Verdünner vorhan-

dene Substanzen geringgradig , was aber durch die oben angeführte Erwärmung fast ausgeschaltet werden konnte. Die Sedimentierung des Spermas, die bei allen Verdünnern in unterschiedlichen Graden beobachtet werden konnte, hat auf die Untersuchungsergebnisse keinen Einfluss. Da zu den übrigen Verdünnern ein Eizusatz erforderlich ist, um befriedigende Werte zu erhalten, stehen sie in der praktischen Anwendung den anderen nach. Die Milch zeitigte ebenfalls bei einfacher Anwendung sehr günstige Ergebnisse, trägt jedoch die Gefahren einer Säuerung in sich.

IV. Schlussbetrachtung.

=====

Aus den Versuchen kann geschlossen werden, dass Verdünnungs- und Konservierungsmittel für Bullensperma von konstanter Beschaffenheit hergestellt werden können, deren Wirkung auf das Sperma aber von dessen biologischer Beschaffenheit abhängig ist.

Alle in den Versuchen angewandten Verdüner zeigen eine deutliche konservierende Eigenschaft. Es besteht jedoch noch immer ein Unterschied zwischen den eidotterhaltigen und eidotterfreien Verdünnern, wenn man eine Beurteilung über die Dauer von neun Tagen ansetzt und die Resistenzprüfung und die Anzahl der toten Spermien als Maßstab anlegt.

Der Zusatz von Eidotter birgt die unständliche Verdünnungsherstellung und die nicht zu unterschätzende Gefahr eines Bakterienwachstums in sich. Aus diesem Grund müßten eigentlich sterilisierbare Trockenverdüner wie Dilothen, Spermaverdünner Behring und evtl. weiter entwickelte Präparate vorgezogen werden, wenn diese auch geringgradige ungünstigere Werte in den angestellten Versuchen ergaben.

Die Milch ist ein billiges Verdünnungs- und Konservierungsmittel, welches sehr günstige Werte zeitigte. Ein Zusatz und damit eine Verbesserung der Milch wie auch von Dilepten durch Eidotter, wäre eigentlich ein Schritt zurück. Leider kann man entrahmte Fleischmilch nicht ohne nachteilige Folgen sterilisieren. Selbst eine Er-

hitzung bis zum Kochen ist besonders im Sommer nicht ausreichend und garantiert nicht eine längere Haltbarkeit. Deshalb ist ein Zusatz von keimhemmenden Mitteln nicht zu umgehen. Das Dilopten (Merck) und seine weiter verbesserten Präparate sind in der Praxis am leichtesten und einfachsten verwendbar, fast unbegrenzt haltbar und bedürfen keines Zusatzes, während die Eidotterverdünner wegen ihrer umständlichen Verarbeitung und der Gefahr des Bakterienwachstums gewisse Nachteile haben.

Zum Abschluss kann gesagt werden, dass die auf dem Markt befindlichen und untersuchten Spermaverdünner den an sie gestellten Anforderungen voll entsprechen. In Zukunft werden sterile Trockenverdünner sicherlich mehr und mehr aus den oben genannten Gründen in der Praxis der künstlichen Besamung Anwendung finden.

V. Literaturverzeichnis.

=====

1. A e h n e l t, E.: Vergleichende experimentelle Prüfung der Spermaverdünner Eidotter-Spermisol, Eidotterzitrat und Sp.V.161.
DTW 1951.
2. B o g u t h, W.: Über die Eignung von Färbemethoden zur Bestimmung toter Spermien. Beilage zur DTW "Fortpflanzung und Besamung der Haustiere," 15.10.1951.
3. F o o t e und S a l i s b u r y : The effect of Sulfonamids upon the motility of Spermatozoa and upon the control of bacterial in diluted bull semen.
J.Dairy Sc. 31, 1948.
4. G ö t z e, R.: Besamung und Unfruchtbarkeit der Haustiere.
Verlag M.u.H.Schaper, Hannover 1949.
- derselbe: Neue Anweisungen zur Gewinnung, Verdünnung, Aufbewahrung und zum Transport des Bullenspermas.
DTW 1950/51,42.
5. H a e g e r, O.,
H e i d e n r e i c h, A.u.
L e i d l, W.: Untersuchungen über den Trockenverdünner "Dilopten".
Beilage zur DTW "Fortpflanzung und Besamung der Haustiere ", 1953,3.XI.
6. H l a d y z e w s k y, M.: Gewinnung, Konservierung und Vorbereitung des Samens für die künstliche Besamung bei unseren Haussäugetieren.
Dissertation Giessen 1946.
7. H o e l z e r, H. : Ein Beitrag zur Verdünnung von Rindersperma.
DTW 536, 1948.
- derselbe: Erfahrungen mit dem Verdünner Spermisol.
DTW 1951.

8. H i n z, L.: Untersuchung über die Wirkung verschiedener Verdünnungsflüssigkeiten und Desinfektionsmittel auf das Bullensperma im Reagensglas.
Dissertation Hannover 1951.-
9. J ü r g e n s, J.: Untersuchung zur Konservierung von Bullensperma.
Dissertation Giessen 1951.
10. K a r r a s, W.: Wärmewasserbad und Registratur, ihre Entwicklung und Anwendung. Beilage DTW "Fortpflanzung und Besamung der Haustiere" 1952,8.
11. K ü s t, D. und
S c h a e t z, F.: Die Besamung beim Rind.
Verlag Enke, Stuttgart, 1954, 81ff.
12. K u h n e, W.: Untersuchungen von Bullensperma auf Beschaffenheit und Eignung für die künstliche Besamung.
Disseration Giessen 1936.
13. L a n g h o f f, W.: Untersuchungen über die Wirkung verschiedener keimhemmender Zusätze zum Eidotter-Zitratverdünner auf das Bullensperma.
Dissertation Hannover 1952.
14. v. M a l a p e r t, G.A.: Vergleichende Untersuchungen über den Trockenverdünner Merck und Spermasolverdünner.
Dissertation Hannover 1952.
15. M i l o w a n o w, V.K.: Die Resultate dreijähriger Arbeit an Verdünnungsmittel für Sperma.
Probleme der Tierzucht. 1933, 45. 94ff.
16. R o m i j n, C.: Der Einfluss des Eidotters auf den Stoffwechsel der Spermien.
Tijdschr. voor Diergeneeskunde Ref. DTW 1950.

17. R ü h l e, H.: Vergleichende Untersuchungen über Dilothen und Eidotterverdünner. Beilage DTW "Fortpflanzung und Besamung der Haustiere". 1953. 3.3.
18. S p i e s, P. : Dilothen, Trockenverdünner in der Besamungspraxis. TU. 1953 1/2.23.
19. U l l n e r, W.: Vergleichende Untersuchungen von Sperma verdünnern. TU. 1953, 15/16, 275.
20. W e i s s, K.: Sperma verdünnung mit Milch. Wiener tierärztl. Monatschrift. 1952. 39, 668.

An dieser Stelle möchte ich mich der angenehmen Pflicht entledigen, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. D. K ü s t für die Überlassung der Arbeit Dank zu sagen.

Ferner gilt mein Dank Herrn Dr. W. U l l n e r für seine jederzeit mir zur Verfügung stehende Unterstützung.

VI. Lebenslauf.

Am 22. Februar 1928 wurde ich, Fritz Ferdinand S c h m i d t, in Hanau am Main als Sohn des Chemikers Dr. phil. Wilhelm Schmidt und seiner Frau Marie geb. Collmann, geboren.

Nach vierjährigem Besuch der dritten Hanauer Bezirksschule wurde ich mit zehn Jahren Schüler der Hohen Landesschule zu Hanau. Im Herbst 1943 kam die Einberufung zum Wehrdienst. Nach Kriegsende arbeitete ich in der Landwirtschaft, um im Februar 1946 auf die Realgymnasiale Aufbauschule in Usingen (Taunus) zu gehen, wo ich am 5. März 1947 die Reifeprüfung ablegte. Die Zeit bis zum Studienbeginn an der Justus Liebig-Hochschule in Giessen überbrückte ich wieder mit Arbeiten in der Landwirtschaft und einer halbjährigen Tätigkeit am Hanauer Schlachthof. Zum Wintersemester 1949/50 kam die Zulassung zum tierärztlichen Studium. Als Abschluss der vorklinischen Semester konnte ich am 4. August 1951 die Vorprüfung ablegen. Das tierärztliche Studium schloss ich am 19. Juli 1954 mit der Tierärztlichen Prüfung ab.

Am 1. September 1954 begann meine Praktikantenzeit an der Ambulatorischen und geburtshilflichen Veterinärklinik zu Giessen.

Druck:
Stempel - Kreuter
Gießen